

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**



JC879 U.S. PTO

10/052469



01/23/02

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 101 03 706.6

Anmeldetag: 26. Januar 2001

Anmelder/Inhaber: Aventis Behring GmbH,
Marburg/DE

Bezeichnung: Verwendung eines Hydrogenperoxid-Plasma-
Sterilisations-Verfahrens für die schonende
Sterilisation temperaturempfindlicher Produkte

IPC: A 61 L 2/14

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 20. September 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Nietiedt

AVENTIS BEHRING GMBH
ANR 8177007

2001/A003 - A14
Dr. Pfe / JN

VERWENDUNG EINES HYDROGENPEROXID-PLASMA-STERILISATIONS- VERFAHRENS FÜR DIE SCHONENDE STERILISATION TEMPERATUREMPFINDLICHER PRODUKTE

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisation, wobei die Einstellung der Kammertemperatur über den gesamten Verlauf bei weniger als 39°C liegt, und Behälter mit temperaturempfindlichen Produkten effektiv sterilisiert werden können, ohne dass die temperaturempfindlichen Produkte einen signifikanten Aktivitätsabfall bzw. Abbau zeigen.

Die äußerliche Sterilisation von pharmazeutischen Behältern, die Produkte enthalten, die empfindlich gegenüber Temperatureinflüssen oder Bestrahlung sind, ist ein generelles Problem, das bislang nicht befriedigend gelöst ist.

Die Autoklavierung scheidet für biologische Produkte praktisch immer aus, da dieser thermischen Belastung auch die stabilsten Produkte in der Regel nicht standhalten.

Die industriell genutzte Sterilisation mittels Ethylenoxid benötigt regelmäßig Temperaturen von ca. 40-50°C, typischerweise über einen Zeitraum von insgesamt ca. 24-48 Stunden, u.a. auch um das restliche Ethylenoxyd möglichst vollständig zu entfernen. Aber auch diese Bedingungen sind für temperaturempfindliche Produkte oft nicht akzeptabel. Hinzu kommt, dass mögliche Restmengen an Ethylenoxid oder

dessen Reaktionsprodukten in der Verpackung aufgrund dessen Kanzerogenität bzw. Toxizität ein Nachteil dieser Methode sind.

Ein anderes Verfahren, die Bestrahlung mit γ -Strahlen oder Elektronenstrahlen ist auch für empfindliche Produkte, besonders im flüssigen Zustand, nicht geeignet, da es z.B. mit Aktivitätsverlusten und/oder Produktdegradation verbunden ist.

In den achtziger Jahren wurde ein Sterilisationsverfahren beschrieben (EP-A 0 302 420), bei dem unter reduziertem Druck (< 1 Torr) mit Wasserstoffperoxid in der Gasphase eine Sterilisation angestrebt wurde. Obwohl dieser Prozess auch bei Raumtemperatur beschrieben wurde, ist seine Sterilisationseffizienz nicht ausreichend, um daraus ein sicheres Verfahren für die Routineanwendung zu entwickeln. Erst eine Temperaturerhöhung auf zumindest 40°C erhöht die Effizienz dieses Verfahrens.

Auch bei dem Sterilisationsverfahren mittels Wasserstoffperoxid und Zündung eines Gasplasmas sind Kammertemperaturen von 45°C bzw. $40-45^{\circ}\text{C}$ üblich (T.C.V. Penna, C.A.M. Ferraz, and M.A. Cassola; Infection Control and Hospital Epidemiology 20: 465-472 (1999) und R.F. Morrissey; Biomedical Instrumentation & Technology 30: 404-406 (1996)), lt. US-Patentschrift 4.643,876 bzw. EP 207 417 werden sogar Temperaturen von 57°C im zu sterilisierenden Material gemessen, da das Verfahren selbst zu einer Erwärmung des Sterilisationsgutes führt. Obwohl dieses Verfahren als Niedertemperaturverfahren bzw. Niedertemperaturplasma beschrieben wurde, sind die verwendeten bzw. erreichten Temperaturen immer noch so hoch, dass empfindliche Produkte bei dieser Temperaturbelastung zumindest teilweise geschädigt werden.

Das Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren wird unter der Bezeichnung STERRAD[®]-Verfahren seit Anfang der neunziger Jahre in Europa und USA im wesentlichen zur Sterilisation medizinischer Bestecke eingesetzt. So ist auch die

große Mehrzahl der entsprechenden Geräte im Krankenhausbereich zu finden. Allerdings gibt es auch einige wenige Anwendungen z.B. bei medizinisch einsetzbaren Produkten, Gerätschaften oder Einmalartikeln, bei denen sich die Verwendung von Ethylenoxid oder γ -Bestrahlung aus Kompatibilitätsgründen verbietet. Diese Produkte können dann oft bei den dem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren eigenen Temperaturen von ca. 45°C Kammertemperatur ohne Verlust der Funktionalität sterilisiert werden.

Das STERRAD®-Verfahren ist bislang auf eine Kammertemperatur von 45°C (STERRAD® 100) oder > 39°C (STERRAD® GMP 100) beschränkt, da man nach den bekannten Ergebnissen (z.B. EP-A 0 320 420) davon ausgehen musste, daß eine effektive Sterilisierung erst bei Temperaturen von mehr als 39 °C erreicht werden kann. Eigene Versuche mit dem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahrens bei 45°C Standard-Kammertemperatur mit biologischen Produkten unter den als schonend angenommenen Bedingungen nach dem Stand der Technik zeigten, daß empfindliche biologische Materialien zum großen Teil deutliche oder vollständige Aktivitätseinbußen erlitten (siehe Beispiel 1). Diese können somit nicht unter den bekannten Bedingungen des STERRAD®-Verfahrens sterilisiert werden.

Der vorliegenden Erfindung lag nun die Aufgabe zugrunde, eine Verfahrensweise zu entwickeln, die es erlaubt, empfindliche, biologische bzw. therapeutische Produkte im festen oder im flüssigen Zustand in ihrem Endbehälter (Primärpackmittel) äußerlich zu sterilisieren. Dabei sollte die Auswahl des Endbehälters gewährleisten, dass eine Beeinträchtigung des Produktes durch das Verfahren nicht erfolgt. Ferner sollte eine Sterilisation des Produktes in zwei Umverpackungen (Sekundärpackmittel) möglich sein.

Diese Aufgabe wurde dadurch gelöst, dass eine Modifikation des Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahrens bei weiter reduzierter Temperatur entwickelt

werden konnte, die es erlaubt, schnell und schonend Endbehälter mit empfindlichen Produkten auch in Umverpackungen äußerlich zu sterilisieren.

Es wurde nun gefunden, dass Behälter mit temperaturempfindlichen Produkten unter modifizierten Bedingungen mit Wasserstoffperoxid / Plasma sterilisiert werden können, ohne dass dabei die bislang üblichen Temperaturen angewendet werden müssen bzw. auftreten. Bei Kammertemperaturen unterhalb 39°C können sowohl Produktstabilität als auch Sterilität erreicht werden. Bei Kammertemperaturen um 20-39°C, besonders auch bei ca. 25-35°C, lassen sich die Sterilisationen sehr produktschonend durchführen. Durch Einführung dieser Niedrigtemperatur-Modifikation können somit Endbehälter mit empfindlichen Produkten wie z.B. Proteinen, Peptiden etc. in Lösung effektiv sterilisiert werden. Maßgeblich für die niedrige Produkttemperatur ist dabei sowohl die geringe Kammertemperatur als auch die Vermeidung eines zu hohen Energieeintrages z.B. bei der Injektion des Wasserstoffperoxid sowie bei der Plasmabildung.

Vor Durchführung der Sterilisation können die Produkte ggfs. einem Vorplasma ausgesetzt werden, um Feuchtigkeit zu entfernen wie in EP 707186 beschrieben oder um die Produkttemperatur der Kammertemperatur weiter anzupassen.

Bei dem anzuwendenden Sterilisationszyklus können die sog. Injektionsphase(n) und die Diffusionsphase(n) (ggfs. mit gleichzeitiger Belüftung) in ihrer Zeitdauer variiert werden, bevorzugt zwischen ca. 1 und 60 Minuten. Auf die Belüftung während der Diffusionsphase kann ggfs. auch verzichtet werden, besonders dann, wenn das zu sterilisierende Produkt eine einfache Geometrie aufweist.

Die Injektion von Wasserstoffperoxidlösung kann auch ein- oder mehrfach wiederholt werden, um einen höheren Wasserstoffperoxidgehalt in der Gasphase und so einen erhöhten Abtötungsgrad zu erzielen. Falls notwendig kann auch der gesamte Zyklus oder Teile davon ein- oder mehrfach wiederholt werden, wobei

allerdings entsprechend dem beanspruchten Verfahren eine Einstellung der Kammertemperatur von $< 39^{\circ}\text{C}$ zu beachten ist, um die Erwärmung zu begrenzen.

Wenn die Diffusionsphase mit Belüftung entfällt, kann auf die Injektionsphase, die Wiederherstellung eines ausreichenden Vakuums und das Plasma wieder ein Halbzyklus aus Injektion, Vakuum und Plasma folgen. Dies kann bei einfachen Produktgeometrien die Zyklusdauer reduzieren.

Durch diese Methodik können die Endbehälter von empfindlichen biologischen Produkten wie z.B. Proteinen oder Peptiden in kurzen Zyklen bei niedriger Temperatur sterilisiert werden. Wie im Falle von Plasmaproteinen gezeigt werden konnte, ist mit dem erfindungsgemäßen Verfahren eine produktschonende Sterilisation der Endbehälter möglich. Solche Produkte können dann überall dort eingesetzt werden, wo eine sterile Handhabung notwendig ist.

Es ist aber auch prinzipiell möglich, die beschriebene Verfahrensweise für andere, empfindliche biologische Produkte wie DNA, RNA, Lipide, zelluläre Produkte etc. anzuwenden. Durch die kurze und geringe Temperaturbelastung sind bei den genannten Produkten keine signifikanten Verluste zu erwarten.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann aber auch generell für die Sterilisation von Endbehältern eingesetzt werden, enthaltend temperaturempfindliche, nicht-biologische Produkte. Dies können z.B. synthetische Verbindungen oder therapeutisch einsetzbare Produkte sein, die aufgrund ihrer Temperatursensitivität bei den üblichen Verfahren teilweise oder vollständig inaktiviert oder geschädigt werden.

Bei der Auswahl der Endbehälter, d.h. der Primärpackmittel, ist zu beachten, dass bewegliche Verschlüsse wie Stopfen, Kolbenstopfen oder Kappen so zu fixieren sind, dass im Vakuum kein Öffnen und keine Undichtigkeit der Primärpackmittel

auftritt. Dies kann z.B. durch entsprechende Vorrichtungen verhindert werden, sei es, dass die Verschlüsse direkt fixiert werden oder sei es, dass durch eine entsprechende Sekundärverpackung Sorge getragen wird, dass keine Undichtigkeit bzw. Stopfen- oder Kolbenstopfenverschiebung auftreten kann.

Ein typischer Halbzyklus des erfindungsgemäßen Verfahrens bei reduzierter Temperatur besteht aus den folgenden Elementen:

Vorbereitung (Bei Bedarf durchzuführen):

- Absenkung des Druckes in der Behandlungskammer, bevorzugterweise auf etwa 100 bis 800 mTorr, ganz bevorzugterweise auf etwa 300 bis 600 mTorr
- Anlegen eines Vorplasmas, bevorzugterweise für etwa 1 bis 30 min, ganz bevorzugterweise für etwa 2 bis 15 min,
- Belüftung, bevorzugterweise in weniger als 5 min, ganz bevorzugterweise in weniger als 1 min.

Durchführung eines Halbzyklus bei einer eingestellten Kammer Temperatur von < 39°C, bevorzugterweise bei etwa 20-35 °C:

- Absenkung des Druckes in der Behandlungskammer, bevorzugterweise auf etwa 100 bis 800 mTorr, ganz bevorzugterweise auf etwa 300 bis 600 mTorr
- Einbringen des Wasserstoffperoxids, in der Regel durch direktes Verdampfen einer Lösung im Vakuum mit anschließender Verteilung in der Kammer (Injektion), bevorzugterweise innerhalb 20 min, ganz bevorzugterweise innerhalb 15 min,
- Ggfs. zusätzliche Diffusionsphase des Wasserstoffperoxids (ggfs. mit Belüftung), je nach Anforderungen des zu sterilisierenden Produktes, bevorzugterweise für 1 bis 30 min, ganz bevorzugterweise für 3 bis 15 min,

- Erneutes Absenkung des Druckes und Wiederherstellung eines ausreichenden Vakuums
- Erzeugung eines Plasmas, bevorzugterweise für 0,5 bis 10 min, ganz bevorzugterweise für 1 bis 5 min,
- Belüftung

Ein gesamter Sterilisationszyklus umfasst meist zwei Halbzyklen. Diese Unterteilung wurde aus Gründen der Verfahrensvalidierung getroffen. Wird in einem solchen Halbzyklus ein Abreicherungsfaktor mit Modell-Mikroorganismen, wie z.B. den Sporen des Bac. Stearothermophilus, von $\geq 6 \log_{10}$ KBE erzielt, kann mit ausreichender Sicherheit von einem effektiven Verfahren gesprochen werden.

Der Gegenstand der Erfindung ist im wesentlichen in den Ansprüchen beschrieben.

Beispiel 1 zeigt das Ergebnis eines Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationslaufes unter Standard-Temperaturbedingungen nach dem Stand der Technik. Die folgenden Beispiele (2-5) sollen das Prinzip des modifizierten Verfahrens bei niedriger Temperatur veranschaulichen:

Vergleichsbeispiel 1

Verschiedene Proteinlösungen (wesentlicher Bestandteil von Proteinlösung 1: Fibrinogen, von Proteinlösung 2: Faktor XIII und von Proteinlösung 3: Thrombin) wurden in Glaskarpulen abgefüllt und in Beuteln bestehend aus Tyvek- und einer durchsichtigen Kunststoffolie eingeschweißt. Anschließend wurden die Beutel in Körbe geschichtet und in einem STERRAD® GMP 100 Sterilisator (Lieferant: Johnson & Johnson Medical GmbH, 22844 Norderstedt, Deutschland) mit einem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren entsprechend folgenden Parametern behandelt. Für die Durchführbarkeit der Beispiele ist die exakte Zusammensetzung der verwendeten Proteinlösungen unwesentlich. Es handelt sich um dem Fachmann ansich bekannte Lösungen von therapeutisch eingesetzten biologischen Proteinen, natürlichen oder rekombinanten Ursprungs.

Vorbereitung:

Einstellung der Kammertemperatur auf 45°C. Beladung der Kammer: Korb beschickt mit Produkt-haltigen Primärpackmitteln in Beuteln.

Durchführung des 1. Halbzyklus:

Vakuum: auf ca. 400 mTorr
Injektion: ca. 6 min (1800 µl 59% H₂O₂)
Diffusion: 10 min (inkl. Belüftung)

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Plasma: 2 min

Durchführung eines 2., 3. und 4. Halbzyklus (entsprechend 1. Halbzyklus) direkt im Anschluß an Halbzyklus 1.

Ergebnisse der Sterilisationsläufe entsprechend Beispiel 1: Stabilität der untersuchten Proteinlösungen:

	Gehalt (% der Ausgangswerte)		
Stufe	Proteinlösung 1: Fibrinogen	Proteinlösung 2: Faktor XIII	Proteinlösung 3: Thrombin
Gehalt vor Sterilisation	100	100	100
Gehalt nach 4 Halbzyklen	Gelbildung; Material unbrauchbar	100	26.0 (Trübungen!)
Unbehandelte Kontrolle	100	100	100

Wie aus der Tabelle zu Beispiel 1 ersichtlich ist, tritt im Falle der Proteinlösung 1 (enthaltend Fibrinogen) sowie der Proteinlösung 3 (enthaltend Thrombin) eine temperaturbedingte Aggregation oder Abbau bzw. Denaturierung auf. D.h. beide Produkte sind nach dem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren entsprechend dem Stand der Technik für den vorgesehenen Einsatz unbrauchbar.

Beispiel 2

Verschiedene Proteinlösungen (wesentlicher Bestandteil von Proteinlösung 1: Fibrinogen, von Proteinlösung 2: Faktor XIII und von Proteinlösung 3: Thrombin) wurden in Glaskarpulen abgefüllt und in Beuteln bestehend aus Tyvek- und einer

durchsichtigen Kunststoffolie eingeschweißt. Anschließend wurden die Beutel in Körbe geschichtet und in einem STERRAD® GMP 100 Sterilisator mit einem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren entsprechend folgenden Parametern behandelt.

Vorbereitung:

Einstellung der Kammertemperatur auf: 30°C

Beladung der Kammer: unterer Korb dicht gepackt mit den beschriebenen Beuteln enthaltend wassergefüllte Primärpackmittel; oberer Korb beschickt mit Produkt-haltigen Beuteln sowie zusätzlich einem Temperatursensor.

Nach erfolgter Beladung Durchführung eines „Vorplasmas“:

Vakuum: auf ca. 400 mTorr

Vorplasma: 5 min

Belüftung (kurz)

Durchführung eines 1. Halbzyklus:

Vakuum: auf ca. 400 mTorr

Injektion: ca. 12 min (1800 µl 59% H₂O₂)

Diffusion: 5 min (inkl. Belüftung)

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Plasma: ca. 2 min

Vakuum (kurz) und Belüftung (zur Probenentnahme)

Durchführung eines 2. Halbzyklus (entsprechend 1. Halbzyklus) direkt im Anschluß an Halbzyklus 1.

Ergebnisse der Sterilisationsläufe entsprechend Beispiel 2: Stabilität der untersuchten Proteinlösungen:

Stufe	Gehalt (% der Ausgangswerte)		
	Proteinlösung 1: Fibrinogen	Proteinlösung 2: Faktor XIII	Proteinlösung 3: Thrombin
Gehalt vor Sterilisation	100	100	100
Gehalt nach 1. Halbzyklus	107,7	101,4	98,5
Gehalt nach 2. Halbzyklen	104,3	100,5	98,2
Unbehandelte Kontrolle	100,9	99,5	98,6

Beispiel 3

Verschiedene Proteinlösungen (wesentlicher Bestandteil von Proteinlösung 1: Fibrinogen, von Proteinlösung 2: Faktor XIII und von Proteinlösung 3: Thrombin) wurden in Glaskarpulen abgefüllt und in Beuteln bestehend aus Tyvek- und einer durchsichtigen Kunststoffolie eingeschweißt. Anschließend wurden die Beutel in Körbe geschichtet und in einem STERRAD® GMP 100 Sterilisator mit einem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren entsprechend folgenden Parametern behandelt.

Vorbereitung:

Einstellung der Kammertemperatur auf 30°C.

Beladung der Kammer: unterer Korb dicht gepackt mit den beschriebenen Beuteln enthaltend wassergefüllte Primärpackmittel; oberer Korb beschickt mit Produkt-haltigen Beuteln sowie zusätzlich einem Temperatursensor.

Nach erfolgter Beladung Durchführung eines „Vorplasmas“:

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Vorplasma: 5 min

Belüftung (kurz)

Durchführung eines 1. Halbzyklus:

Vakuum: auf ca. 400 mTorr

Injektion: ca. 17 min (1800 µl 59% H₂O₂)

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Plasma: 2 min

Vakuum (kurz) und Belüftung (zur Probenentnahme)

Durchführung eines 2. Halbzyklus (entsprechend 1. Halbzyklus) direkt im Anschluß an Halbzyklus 1.

Ergebnisse der Sterilisationsläufe entsprechend Beispiel 3: Stabilität der untersuchten Proteinlösungen:

Stufe	Gehalt (% der Ausgangswerte)		
	Proteinlösung 1: Fibrinogen	Proteinlösung 2: Faktor XIII	Proteinlösung 3: Thrombin
Gehalt vor Sterilisation	100	100	100
Gehalt nach 1. Halbzyklus	101,7	101,9	98,9
Gehalt nach 2 Halbzyklen	101,2	101,9	98,6
Unbehandelte Kontrolle	100,9	99,5	98,6

Beispiel 4

Verschiedene Proteinlösungen (wesentlicher Bestandteil von Proteinlösung 1: Fibrinogen, von Proteinlösung 2: Faktor XIII und von Proteinlösung 3: Thrombin) wurden in Glaskarpulen abgefüllt und in Beuteln bestehend aus Tyvek- und einer durchsichtigen Kunststoffolie eingeschweißt. Anschließend wurden die Beutel in Körbe geschichtet und in einem STERRAD® GMP 100 Sterilisator mit einem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren entsprechend den folgenden Parametern behandelt.

Neben Produkt-befüllten Primärpackmitteln wurden auch Karpulen und Sporenstreifen eines Testorganismus (Bac. Stearothermophilus) doppelt in Tyvek-Beuteln eingeschweißt, um die Sterilisationseffektivität zu überprüfen.

Vorbereitung:

Einstellung der Kammertemperatur auf: 35°C.

Beladung der Kammer: unterer Korb dicht gepackt mit den beschriebenen Beuteln enthaltend wassergefüllte Primärpackmittel; oberer Korb beschickt mit Produkt-haltigen Beuteln, Beuteln enthaltend Sporenstreifen und Primärpackmittel sowie zusätzlich einem Temperatursensor.

Nach erfolgter Beladung Durchführung eines „Vorplasmas“:

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Vorplasma: 5 min

Belüftung (kurz)

Durchführung eines 1. Halbzyklus:

Vakuum: auf ca. 400 mTorr

Injektion: ca. 12 min (1800 µl 59% H₂O₂)

Diffusion: 5 min (inkl. Belüftung)

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Plasma: 2 min

Vakuum (kurz) und Belüftung (zur Probenentnahme)

Durchführung eines 2. Halbzyklus (entsprechend 1. Halbzyklus) direkt im Anschluß an Halbzyklus 1.

Ergebnisse der Sterilisationsläufe entsprechend Beispiel 4: Stabilität der untersuchten Proteinlösungen:

Stufe	Gehalt (% der Ausgangswerte)		
	Proteinlösung 1: Fibrinogen	Proteinlösung 2: Faktor XIII	Proteinlösung 3: Thrombin
Gehalt vor Sterilisation	100	100	100
Gehalt nach 1. Halbzyklus	106,9	108,0	99,3
Gehalt nach 2 Halbzyklen	102,7	104,7	99,6
Unbehandelte Kontrolle	100,9	99,5	98,6

Sterilitätsauswertung von 8 Sporenstreifen behandelt in einem Halbzyklus:

	Sterilitätsauswertung der eingesetzten Sporenstreifen Nr.							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Anzahl Sporen pro Sporenstreifen vor dem Halbzyklus ($\times 10^6$)	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Sporen nach einem Halbzyklus nachweisbar	0	0	0	0	0	0	0	0

Beispiel 5

Verschiedene Proteinlösungen (wesentlicher Bestandteil von Proteinlösung 1: Fibrinogen, von Proteinlösung 2: Faktor XIII und von Proteinlösung 3: Thrombin) wurden in Glaskarpulen abgefüllt und in Beuteln bestehend aus Tyvek- und einer durchsichtigen Kunststoffolie eingeschweißt. Anschließend wurden die Beutel in Körbe geschichtet und in einem STERRAD® GMP 100 Sterilisator mit einem Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren entsprechend folgenden Parametern behandelt.

Vorbereitung:

Einstellung der Kammertemperatur auf: 35°C

Beladung der Kammer: unterer Korb dicht gepackt mit den beschriebenen Beuteln enthaltend wassergefüllte Primärpackmittel; oberer Korb beschickt mit Produkt-haltigen Beuteln sowie zusätzlich einem Temperatursensor.

Nach erfolgter Beladung Durchführung eines „Vorplasmas“:

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Vorplasma: 5 min

Belüftung (kurz)

Durchführung eines 1. Halbzyklus:

Vakuum: auf ca. 400 mTorr

1. Injektion: ca. 2 min

2. Injektion: ca. 10 min (1800 µl 59% H₂O₂)

Diffusion: 5 min (inkl. Belüftung)

Vakuum: auf ca. 400-500 mTorr

Plasma: 2 min

Vakuum (kurz) und Beginn mit nächstem Halbzyklus oder Belüftung (zur Probenentnahme)

Durchführung eines 2., 3. und 4. Halbzyklus (entsprechend 1. Halbzyklus) direkt im Anschluß an Halbzyklus 1.

Ergebnisse der Sterilisationsläufe entsprechend Beispiel 5: Stabilität der untersuchten Proteinlösungen:

Stufe	Gehalt (% der Ausgangswerte)		
	Proteinlösung 1: Fibrinogen	Proteinlösung 2: Faktor XIII	Proteinlösung 3: Thrombin
Gehalt vor Sterilisation	100	100	100
Gehalt nach 2 Halbzyklen	94,2	102,9	100,3
Gehalt nach 4 Halbzyklen	92,0	108,1	100,3
Unbehandelte Kontrolle	97,5	106,2	99,3

AVENTIS BEHRING GMBH
ANR 8177007

2001/A003 - A14

Dr. Pfe / JN

Patentansprüche:

- 1) Verfahren zur Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisation, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammertemperatur über den gesamten Verlauf weniger als 39°C beträgt, und dass Behälter mit temperaturempfindlichen Produkten effektiv sterilisiert werden können, ohne dass die temperaturempfindlichen Produkte einen signifikanten Aktivitätsabfall bzw. Abbau zeigen.
- 2) Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Produkttemperatur beim Sterilisationsvorgang nicht über 40°C ansteigt.
- 3) Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den temperaturempfindlichen Produkten um biologische Materialien handelt.
- 4) Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-3, wobei folgende Schritte enthalten sind:
 - Einbringen eines zu sterilisierenden Behälters, enthaltend ein temperaturempfindliches Material, in eine Behandlungskammer,
 - Absenken des Druckes in der Behandlungskammer
 - Einbringen des Wasserstoffperoxids,

- gegebenenfalls zusätzliche Diffusionsphase des Wasserstoffperoxids, gegebenenfalls mit Belüftung,
 - Erneutes Absenkung des Druckes und Wiederherstellung eines ausreichenden Vakuums
 - Erzeugung eines Plasmas,
 - Belüftung
- 5) Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisationsverfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den temperaturempfindlichen Produkten um Proteine, Peptide, Nucleinsäuren, Lipide, oder zellhaltige Materialien handelt.
- 6) Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem temperaturempfindlichen Produkt um eine Fibrinogen-haltige Lösung handelt, und dass der Gehalt an gerinnbarem Fibrinogen nicht signifikant abfällt und dass das Fibrinogen keine signifikante Viskositätszunahme oder Gelbildung zeigt.
- 7) Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem temperaturempfindlichen Produkt um eine Faktor XIII-haltige Lösung handelt.
- 8) Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem temperaturempfindlichen Produkt um eine Thrombin-haltige Lösung handelt.
- 9) Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem temperaturempfindlichen Produkt um die Komponenten eines Gewebeklebers handelt.

- 10) Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-4, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem temperaturempfindlichen Produkt um die Komponenten eines Fibrinklebers handelt.
- 11) Verfahren nach den Ansprüchen 1-10, dadurch gekennzeichnet, dass die Primärpackmittel einmal mit Materialien umhüllt sind, die mindestens teilweise durchlässig für Wasserstoffperoxid sind.
- 12) Verfahren nach den Ansprüchen 1-10, dadurch gekennzeichnet, dass die Primärpackmittel mehrfach mit Materialien umhüllt sind, die mindestens teilweise durchlässig für Wasserstoffperoxid sind.
- 13) Therapeutisch wirksame biologische Materialien in Endabfüllung, die nach einem Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1-12 sterilisiert worden sind.

AVENTIS BEHRING GMBH

ANR 8177007

2001/A003 - A14

Dr. Pfe / JN

Zusammenfassung

VERWENDUNG EINES HYDROGENPEROXID-PLASMA-STERILISATIONS- VERFAHRENS FÜR DIE SCHONENDE STERILISATION TEMPERATUREMPFINDLICHER PRODUKTE

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Hydrogenperoxid-Plasma-Sterilisation, wobei die Einstellung der Kammertemperatur über den gesamten Verlauf bei weniger als 39°C liegt, und Behälter mit temperaturempfindlichen Produkten effektiv sterilisiert werden können, ohne dass die temperaturempfindlichen Produkte einen signifikanten Aktivitätsabfall bzw. Abbau zeigen.